

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Patent Application of

FARDEAU et al.

Atty. Ref.: 1721-94

Serial No. 10/538,715

Group: unknown

Filed: June 10, 2005

Examiner: Unknown

For: BACTERIAL STRAINS OF GENUS EXIGUOBACTERIUM,
CULTURE METHOD AND USES

* * * * *

June 14, 2006

Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Sir:

**SUBMISSION OF INTERNATIONAL
PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

Submitted herewith is a copy of the International Preliminary Examination Report issued in PCT/FR03/03665 dated December 13, 2002, as well as the English language translation of the Annexes of the noted Report, for the Examiner's consideration.

Respectfully submitted,

NIXON & VANDERHYTE P.C.

By: _____



B. J. Sadoff
Reg. No. 36,663



BJS:pp
901 North Glebe Road, 11th Floor
Arlington, VA 22203-1808
Telephone: (703) 816-4000
Facsimile: (703) 816-4100

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

(article 36 et règle 70 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire	POUR SUITE A DONNER voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/PEA/416)	
Demande internationale No. PCT/FR 03/03665	Date du dépôt international (jour/mois/année) 10.12.2003	Date de priorité (jour/mois/année) 13.12.2002
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB C12N1/20		
Déposant INSTITUT DE RECHERCHE POUR LE DEVELOPPE..., et al.		
<p>1. Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.</p> <p>2. Ce RAPPORT comprend 6 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).</p> <p>Ces annexes comprennent 5 feuilles.</p>		
<p>3. Le présent rapport contient des indications et les pages correspondantes relatives aux points suivants :</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Base de l'opinion</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priorité</p> <p>III <input type="checkbox"/> Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle</p> <p>IV <input type="checkbox"/> Absence d'unité de l'invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Déclaration motivée selon la règle 66.2(a)(ii) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration</p> <p>VI <input type="checkbox"/> Certains documents cités</p> <p>VII <input type="checkbox"/> Irrégularités dans la demande internationale</p> <p>VIII <input type="checkbox"/> Observations relatives à la demande internationale</p>		
Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale 06.04.2004	Date d'achèvement du présent rapport 09.02.2005	
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international  Office européen des brevets D-80298 Munich Tél. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465		Fonctionnaire autorisé Trommsdorff, M N° de téléphone +49 89 2399-7361 

I. Base du rapport

1. En ce qui concerne les **éléments** de la demande internationale *(les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées, dans le présent rapport, comme "initialement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications (règles 70.16 et 70.17))* :

Description, Pages

2-13	telles qu'initialement déposées
1, 1a	reçue(s) le 03.01.2005 avec lettre du 03.01.2005

la partie de la description r?serv?e au listage des s?quences, Pages

1, 2	telles qu'initialement déposées
------	---------------------------------

Revendications, No.

1-11	reçue(s) le 03.01.2005 avec lettre du 03.01.2005
------	--

2. En ce qui concerne la **langue**, tous les éléments indiqués ci-dessus étaient à la disposition de l'administration ou lui ont été remis dans la langue dans laquelle la demande internationale a été déposée, sauf indication contraire donnée sous ce point.

Ces éléments étaient à la disposition de l'administration ou lui ont été remis dans la langue suivante: ,qui est:

- ☐ la langue d'une traduction remise aux fins de la recherche internationale (selon la règle 23.1(b)).
- ☐ la langue de publication de la demande internationale (selon la règle 48.3(b)).
- ☐ la langue de la traduction remise aux fins de l'examen préliminaire internationale (selon la règle 55.2 ou 55.3).

3. En ce qui concerne les **séquences de nucléotides ou d'acide aminés** divulguées dans la demande internationale (le cas échéant), l'examen préliminaire internationale a été effectué sur la base du listage des séquences :

- ☒ contenu dans la demande internationale, sous forme écrite.
- ☐ déposé avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- ☐ remis ultérieurement à l'administration, sous forme écrite.
- ☒ remis ultérieurement à l'administration, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- ☐ La déclaration, selon laquelle le listage des séquences par écrit et fourni ultérieurement ne va pas au-delà de la divulgation faite dans la demande telle que déposée, a été fournie.
- ☒ La déclaration, selon laquelle les informations enregistrées sous déchiffrable par ordinateur sont identiques à celles du listage des séquences Présenté par écrit, a été fournie.

4. Les modifications ont entraîné l'annulation :

- ☐ de la description, pages :
- ☐ des revendications, nos :
- ☐ des dessins, feuilles :

**RAPPORT D'EXAMEN
PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n°

PCT/FR 03/03665

5. ☐ Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

(Toute feuille de remplacement comportant des modifications de cette nature doit être indiquée au point 1 et annexée au présent rapport.)

6. Observations complémentaires, le cas échéant :

V. Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

1. Déclaration			
Nouveauté	Oui:	Revendications	8
	Non:	Revendications	1-7, 9-11
Activité inventive	Oui:	Revendications	8
	Non:	Revendications	1-7, 9-11
Possibilité d'application industrielle	Oui:	Revendications	1-11
	Non:	Revendications	

2. Citations et explications

voir feuille séparée

1. Documents cités

- D1: DRANCOURT MICHEL ET AL: "16S ribosomal DNA sequence analysis of a large collection of environmental and clinical unidentifiable bacterial isolates." JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, vol. 38, no. 10, octobre 2000 (2000-10), p.3623-30, ISSN: 0095-1137
- D2: FARROW JOHN A E ET AL: "Phylogenetic interrelationships of round-spore-forming bacilli containing cell walls based on lysine and the non-spore-forming genera Caryophanon, Exiguobacterium, Kurthia, and Planococcus." INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY, vol. 44, no. 1, 1994; p.74-82, ISSN: 0020-7713
- D3: FRUEHLING ANJA ET AL: "Exiguobacterium undae sp. nov. and Exiguobacterium antarcticum sp. nov." INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY, vol. 52, no. 4, juillet 2002 (2002-07), p.1171-6, ISSN: 1466-5026
- D4: DATABASE EMBL [Online] Exiguobacterium acetylicum 16S rRNA gene 10 juillet 1995 (1995-07-10), NAKAGAWA ET AL.: extrait de EBI Database accession no. D55730
- D5: US-A-6 022 537 (GARCIA JEAN-LOUIS ET AL) 8 février 2000 (2000-02-08)

2. Concernant le point V

Déclaration motivée quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

- 2.1. La présente demande ne remplit pas les conditions énoncées dans l'article 33(1) PCT, l'objet des revendications 1-6 n'étant pas conforme au critère de nouveauté défini par l'article 33(2) PCT.

La demande a pour objet une souche bactérienne désignée *Exiguobacterium lactigenes* sp. nov. caractérisée par sa séquence ARN ribosomal 16S et son utilisation pour la production de lactate.

Le document D1 décrit la classification d'une large collection de bactéries par le séquençage de leur ARN ribosomal 16S.

Le clone 18 (déposé sous le no. AF227839) présente 98.2% d'identité sur 1492 nucléotides avec la séquence revendiquée et est donc destructeur de nouveauté pour l'objet des revendications 1-3 et 6 (Art. 3(2) PCT). Le fait que dans la revendication 1 le genre de la souche bactérienne est précisé être *Exiguobacterium lactigenes* ne représente pas une vraie caractéristique

technique, qui suffirait à différencier ladite souche de l'art antérieur, étant donné qu'il s'agit là d'une désignation arbitraire donnée par les inventeurs.

D2 analyse les séquences ARNr 16S de différentes espèces bactériennes et les compare avec d'autres espèces connues. Entre autre l'ARNr 16S d'*Exiguobacterium aurantiacum* est séquencé, la séquence présente 97.4% d'identité avec la séquence revendiquée et est donc destructrice de nouveauté pour l'objet des revendications 1-3 et 6 (Art. 33(2) PCT).

D3 divulgue les séquences ARNr 16S de quatre espèces bactériennes différentes. Le clone H2T est caractérisé par un ARNr 16S ayant 93.8% d'identité avec la séquence revendiquée et détruit donc la nouveauté des revendications 1, 2 et 6 (Art. 33(2) PCT).

L'ARNr 16S du clone d'*Exiguobacterium acetylicum* divulgué dans D4 est 93.6% identique à la séquence revendiquée et détruit donc aussi la nouveauté des revendication 1, 2 et 6 (Art. 33(2) PCT).

Les revendications 4, 5 et 7 dépendent de la revendication 1 et englobent donc, elles aussi, n'importe quelle souche bactérienne s'hybridant sur quelques nucléotides avec la séquence ID No. et présentant en plus une des caractéristiques techniques indiquées. Il est certain qu'un grand nombre de souches décrites dans D1-D4 présente de façon implicite ces caractéristiques: ces revendications manquent donc également de nouveauté (Art. 33(2) PCT). Une limitation à un haut degré d'identité avec la séquence ID No.1 suffirait à rétablir la nouveauté.

D5 décrit une souche bactérienne ayant des propriétés très similaires à la souche revendiquée (t° optimale, pH optimum, etc.), mais du genre *Lactobacillus*.

D5 décrit par ailleurs l'utilisation de cette souche thermotolérante pour la production d'acide lactique.

Au vu de D5, les méthodes des revendications 9-11 manquent d'activité inventive (Art. 33(3) PCT).

2.2. Au vu des documents cités ci-dessus, la souche revendiquée à la revendication 8 représente une nouvelle souche du genre *Exiguobacterium*.

Bien qu'elle soit caractérisée par un ARNr 16S présentant une forte homologie avec celui d'autres souches de l'art antérieur, aucun des documents cités ne

suggère l'existence de cette nouvelle souche.

La revendication 8 est donc nouvelle et inventive (Art. 33(1)-(3) PCT).

- 2.3. L'objet des revendications 1-11 a une application industrielle dans le domaine agronomique (Art. 33(4) PCT).

PCT/FR03/03665

1

SOUCHES BACTERIENNES DU GENRE *EXIGUOBACTERIUM*
PROCEDE DE CULTURE ET APPLICATIONS

L'invention a pour objet de nouvelles souches du genre *Exiguobacterium*.

Elle vise également un procédé de culture de ces souches,
5 ainsi que leurs applications industrielles.

L'invention se rapporte plus particulièrement à des souches bactériennes telles qu'isolées d'échantillons provenant de systèmes hydrothermaux marins profonds.

10 Dans Journal of Clinical Microbiology, vol 38, n°10, October 2000, p.3623-30, Drancourt et al rapportent les résultats de l'étude d'une collection de 177 isolats de sources diverses et de leur identification sur la base des ARNr.

15 Mais les espèces données de ce tableau sont très éloignées des souches de l'invention.

Dans l'article paru dans International Journal of systematic bacteriology, vol 44, n°1, 1994, p. 74-82, Farrow et al décrivent des études comparatives entre différentes
20 espèces. Le genre *Exiguobacterium* est mentionné, mais aucune précision n'est donnée sur les espèces.

L'article de Fröhling et al dans International Journal of systematic and evolutionary microbiology, vol 52, n°4, juillet 2002, p.1171-6, on rapporte des souches de *Exiguobacterium*
25 *undae* sp.nov. et de *Exiguobacterium antarcticum* sp.nov. isolées à partir de l'eau de mares.

Ces souches et les autres espèces du genre *Exiguobacterium* données ont des positionnements phylogénétiques très éloignés des souches de l'invention.

30 Le document Data base EMBL, n° d'accension D 55730, donne l'ARNr 16 S d'un clone d'*Exiguobacterium acetylicum*, ce qui

PCT/FR03/03665

la

correspond aussi à une espèce différente de celle de l'invention.

Ces documents rapportent respectivement, la séquence de l'ARNr 16 S de *Exiguobacterium auriantiacum* (NDCDO 2321) et de *Exiguobacterium undae*. Les commentaires donnés ci-dessus en rapport avec le document Data base s'appliquent également.

L'étude par les inventeurs des échantillons prélevés les a conduit à isoler une nouvelle espèce d'*Exiguobacterium* présentant des propriétés de grand intérêt dans divers domaines de l'industrie.

L'invention a donc pour but de fournir des souches de cette nouvelle espèce.

Elle vise également à fournir des protocoles de culture de ces souches précisant les conditions physico-chimiques et la composition du milieu de culture qui permettent de produire favorablement des cellules et/ou certains métabolites, plus particulièrement du L(+) lactate.

Selon un autre aspect, l'invention vise l'utilisation directe de ces souches ou celle de leurs métabolites dans divers domaines de l'industrie.

Les souches bactériennes de l'invention sont caractérisées en ce qu'elles possèdent une séquence d'ADN dont au moins une partie est capable de s'hybrider avec de l'ADN génomique ou plasmidique de la souche déposée le 5 décembre 2002, sous le n° I-2962, à la Collection Nationale de Cultures de Microorganismes (C.N.C.M.), 25 rue du Docteur Roux, 75015 PARIS.

PCT/FR03/03665

14

REVENDICATIONS

1/ Souches bactériennes, caractérisées en ce qu'il s'agit d'*Exiguobacterium* du genre *lactigenes* et qu'elles possèdent une séquence d'ADN dont au moins une partie est capable de s'hybrider avec de l'ADN génomique ou plasmidique de la souche déposée le 5 décembre 2002, sous le n° I-2962, à la Collection Nationale de Cultures de Microorganismes (C.N.C.M.).

2/ Souches bactériennes selon la revendication 1, caractérisées en ce qu'au moins 70 % de leur génome est capable de s'hybrider avec l'ADN de la souche déposée.

3/ Souches bactériennes selon la revendication 1 ou 2, caractérisées par la séquence SEQ ID N°1 de l'ARNr 16S :

GCCTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGCAGGAAGCCGTCTGAACCCCTTCGGGGGGACGACGGTGAATGAGCGGC
GGACG
GGTGAGTAACACGTAAGAAGCCTCCCATAGGTCTGGGATAACCACGAGAAATCGGGGCTAATACCGGATGTGTC
ATCGG
20 ACCGCATGCTCCGCTGATGAAAGGCGCTCCGGCGTCGCCATGGATGGCTTTGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGG
GGTAA
CGCCCCACCAAGCGGACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGA
CTCCT
ACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAACGATGAAGGC
25 TTTCG
GGTCGTAAAGTTCTGTTGTAAGGGAAGAACAAGTGCCGCGAGGCAATGCCGCCACCTTGACGGTACCTTGCGAGAA
AGCCA
CGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTTGGGCGTAAAGCGC
GCGCA
30 CGCGGCTCTTAAGTCTGATCTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGCCATTTGGAAACTGGGAGGCTTTGAGTA
TAGGA
GAGAAGAGTGGAATTCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACAGTGGCGAAGGCGACTCT
TTGGC
CTATAACTGACGCTGAGGCTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAAC
35 CATGA
GTGCTAGGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTTCAGTGCTGAAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGET
CGCAA
GCCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCGGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGGAAGCAACGCCAAG
AACCT
40 TACCAACTCTTGACATCCCCCTGACCGGTACAGAGATGTACCTTCCCCTTCGGGGGCGAGGGTGACAGGTGGTGC
ATGGT
TGTCCGTACGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAACTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGTCCTTAGTTGCCAGCAT
TAGT
TGGGCACCTCTAGGGAGACTGCCGGTGACAAACGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATG
45 AGTTG

PCT/FR03/03665

15

GGCTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAAAGGGCAGCGAAGCCGCGAGGTGGAGCCAATCCCAGAAAGCCGTT
CTCAG
TTCGGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATGCGAGGTCAGCATACTGCCGTGAA
TACGT
5 TCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCAACACACGAGAGTTTGAACACCCGAAGTCGGTGAGGTAACCGTAAGG
AGCCA
GCCCGCGAAGGTGGGGCAGATGATTGGGGTGAAGTCGTAACAGGTAGCCGTATCGGAAGGTGCCGCTGA

ou une séquence ayant une similitude avec SEQ ID N°1
10 supérieure à 97%.

4/ Souches bactériennes selon l'une quelconque des
revendications 1 à 3, caractérisées en ce qu'elles sont
thermotolérantes, saccharolytiques et amylolytiques et/ou
capables de produire du L(+)lactate.

15 5/ Souches selon l'une quelconque des revendications 1
à 4, caractérisées par des propriétés de croissance à des
températures de l'ordre de 40 à 50°C, à un pH de 5,4 à 9,15,
avec un optimum pour la croissance à 45°C, à un pH de 7
environ.

20 6/ Souches bactériennes selon l'une quelconque des
revendications 1 à 5, caractérisées par une teneur de leur ADN
en guanine et cytosine de 50 mole% environ.

7/ Souches bactériennes, caractérisées en ce qu'il
s'agit d'*Exiguobacterium* du genre *lactigenes* et qu'elles
25 possèdent une séquence d'ADN dont au moins une partie est
capable de s'hybrider avec de l'ADN génomique ou plasmidique
de la souche déposée le 5 décembre 2002, sous le n° I-2962, à
la Collection Nationale de Cultures de Microorganismes
(C.N.C.M.), ces souches étant thermotolérantes,
30 saccharolytiques et amylolytiques et/ou capables de produire
du L(+)lactate, ayant des propriétés de croissance à des
températures de l'ordre de 40 à 50°C, à un pH de 5,4 à 9,15,
avec un optimum pour la croissance à 45°C, à un pH de 7
environ, et une teneur de leur ADN en guanine et cytosine de
35 50 mole% environ.

PCT/FR03/03665

16

8/ Souche bactérienne déposée à la C.N.C.M. le 5 décembre 2002, sous le numéro I-2962.

5 9/ Procédé de culture de souches bactériennes selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, caractérisé en ce qu'on opère dans des conditions anaérobies facultatives, à un pH de 5,4 à 9,15 environ, à 37°C, en particulier de 6,5 à 7,5, dans un milieu de base contenant un sucre utilisable par ces souches comme source d'énergie.

10 10/ Application des souches bactériennes selon l'une des revendications 1 à 8, dans des procédés de fermentation alimentaire.

11/ Procédé de production de métabolites tels que le L(+) lactate, caractérisé en ce qu'il comprend

15 - la culture d'une souche bactérienne selon l'une quelconque des revendications 1 à 8 dans des conditions appropriées pour son développement et pour la production du métabolite recherché,

20 - la récupération des métabolites produits, l'isolement du métabolite désiré et sa purification.

BACTERIAL STRAINS OF GENUS *EXIGUOBACTERIUM*, CULTURE
METHOD AND USES

The invention relates to novel strains of the
5 *Exiguobacterium* genus.

It also relates to a method for culturing these
strains, and to industrial uses thereof.

10 The invention relates more particularly to bacterial
strains as isolated from samples originating from deep-
sea hydrothermal systems.

In the Journal of Clinical Microbiology, Vol. 38,
15 No. 10, October 2000, p. 3623-30, Drancourt et al.
report the results of the study of a collection of 177
isolates from various sources and of the identification
thereof on the basis of the rRNAs.

20 However, the species given in this table are very
different from the strains of the invention.

In the article published in the International Journal
of Systematic Bacteriology, Vol. 44, No. 1, 1994,
25 p. 74-82, Farrow et al. describe comparative studies
between various species. The *Exiguobacterium* genus is
mentioned, but no specification is given regarding
species.

30 The article by Fröhling et al., in the International
Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology,
Vol. 52, No. 4, July 2002, p. 1171-6, reports strains
of *Exiguobacterium undae* sp.nov. and of *Exiguobacterium*
antarcticum sp.nov. isolated from pond water.

35 These strains and the other species of the
Exiguobacterium genus given have phylogenetic positions

that are very distant from the strains of the invention.

5 The EMBL database document accession No. D 55730 gives the 16S rRNA of an *Exiguobacterium acetylicum* clone, which also corresponds to a species different from that of the invention.

10 These documents report, respectively, the sequence of the 16S rRNA of *Exiguobacterium auriantiacum* (NDCDO 2321) and of *Exiguobacterium undae*. The comments given above in relation to the database document also apply.

15 The study, by the inventors, of the samples taken has led them to isolate a novel species of *Exiguobacterium* that exhibits properties of great interest in various industrial fields.

20 The aim of the invention is therefore to provide strains of this novel species.

25 The invention is also directed toward providing protocols for culturing these strains, that specify the physicochemical conditions and the composition of the culture medium which make it possible to favorably produce cells and/or certain metabolites, more particularly L(+) lactate.

30 According to another aspect, the invention is directed toward the direct use of these strains, or that of their metabolites, in various industrial fields.

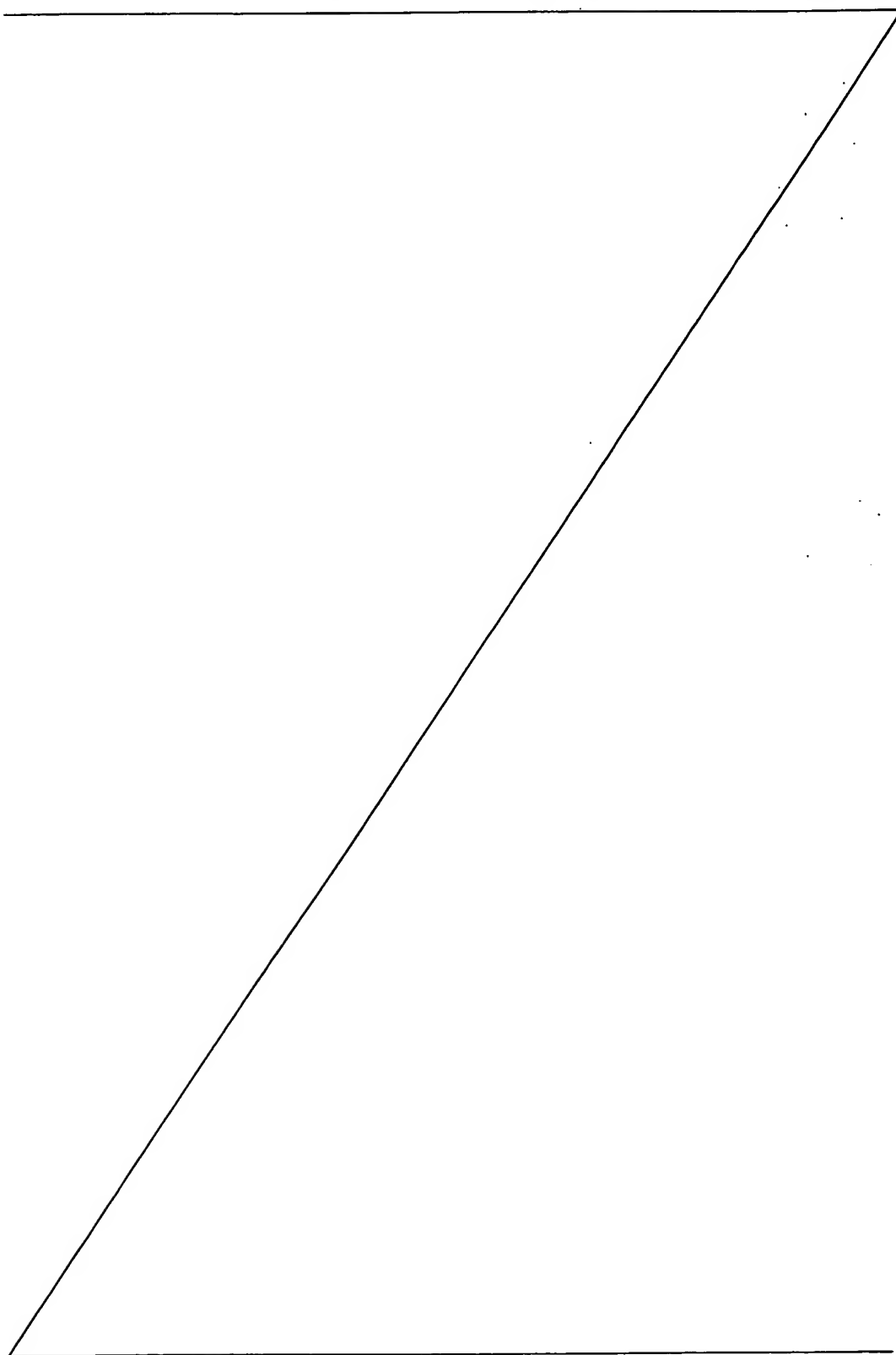
35 The bacterial strains of the invention are characterized in that they have a DNA sequence, at least part of which is capable of hybridizing with genomic or plasmid DNA of the strain deposited on December 5, 2002, under the No. I-2962, with the

FR0303665

PCT/FR03/03665

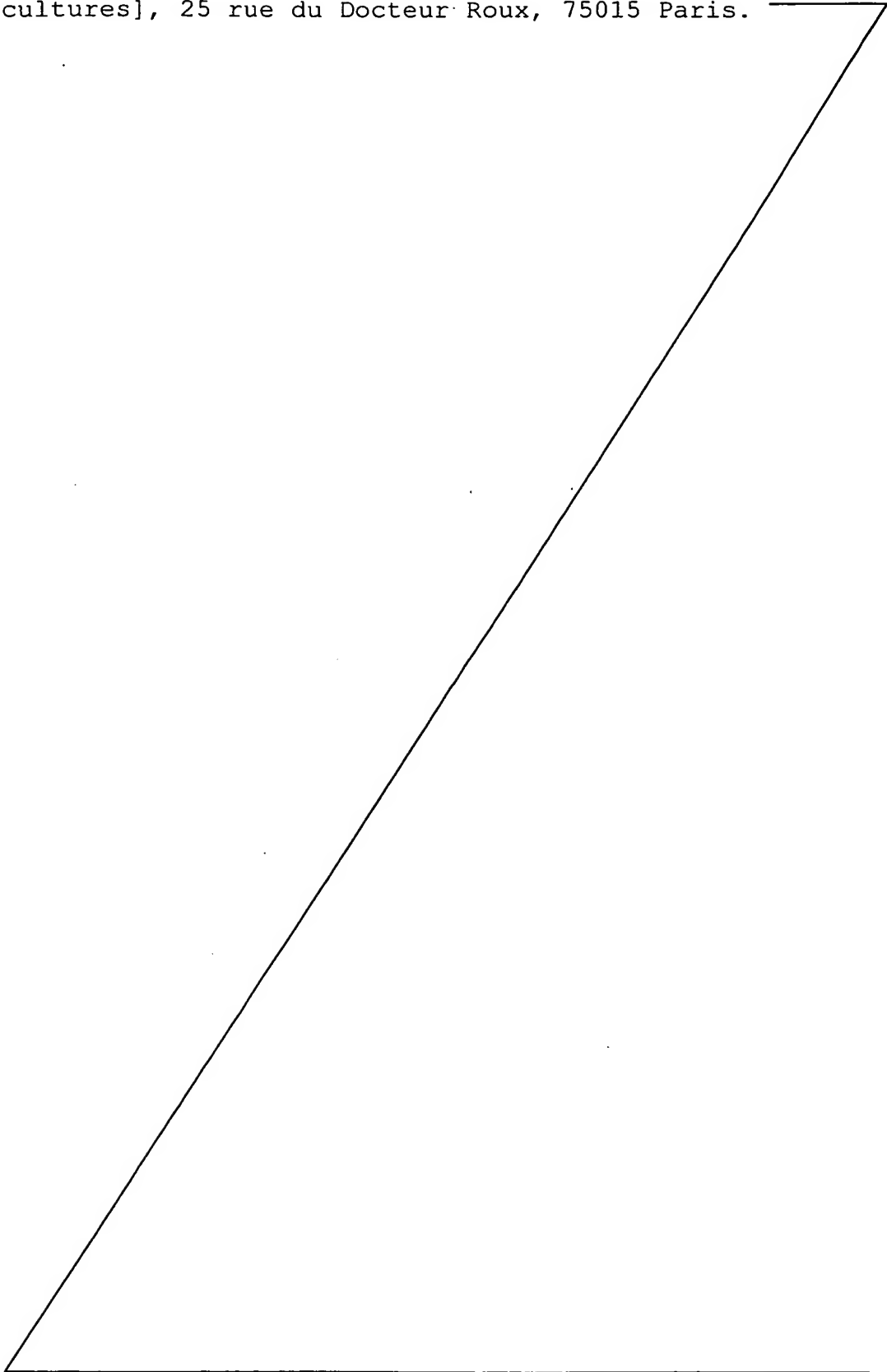
- 1b -

Collection Nationale de Cultures de Microorganismes
(C.N.C.M.) [French national collection of microorganism]



AMENDED SHEET

cultures], 25 rue du Docteur Roux, 75015 Paris.



CLAIMS

1. A bacterial strain, characterized in that it is
Exiguobacterium of the *lactigenes* genus and in that it
5 has a DNA sequence, at least part of which is capable
of hybridizing with genomic or plasmid DNA of the
strain deposited on December 5, 2002, under the
No. I-2962, with the Collection Nationale de Cultures
de Microorganismes (C.N.C.M.) [French national
10 collection of microorganism cultures].

2. The bacterial strain as claimed in claim 1,
characterized in that at least 70% of its genome is
capable of hybridizing with the DNA of the deposited
15 strain.

3. The bacterial strain as claimed in claim 1 or 2,
characterized by the sequence SEQ ID No. 1 of the 16S
rRNA:

GCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGCAGGAAGCCGTCTGAACCCTTCGGGGGGACGACGGTGAATGA
 GCGGCGGACG
 GGTGAGTAACACGTAAAGAACCTGCCCATAGGTCTGGGATAACCACGAGAAATCGGGGCTAATACCGGAT
 GTGTCATCGG
 ACCGCATGGTCCGCTGATGAAAGGCGCTCCGGCGTCGCCCATGGATGGCTTTGCGGTGCATTAGCTAGTT
 GGTGGGGTAA
 CGGCCACCAAGGCGACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGC
 CCAGACTCCT
 ACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAACGATG
 AAGGCTTTTCG
 GGTGCTAAAGTTCTGTTGTAAGGGAAGAACAAGTGCCGCGAGGCAATGGCGGCACCTTGACGGTACCTTGC
 GAGAAAGCCA
 CGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAA
 AGCGCGCGCA
 GGGGGCTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGCCATTGGAACTGGGAGGCTT
 GAGTATAGGA
 GAGAAGAGTGGAAATCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCG
 ACTCTTTGGC
 CTATAACTGACGCTGAGGCTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCG
 TAAACGATGA
 GTGCTAGGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGAAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGT
 ACGGTCGCAA
 GGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGGAAGCAACG
 CGAAGAACCT
 TACCAACTCTTGACATCCCCCTGACCGGTACAGAGATGTACCTTCCCCTTCGGGGGAGGGGTGACAGGT
 GGTGCATGGT
 TGTCGTGACGTCTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTGCC
 AGCATTAAGT
 TGGGCACTCTAGGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCC
 TTATGAGTTG
 GGCTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAAAGGGCAGCGAAGCCGCGAGGTGGAGCCAATCCCAGAAAG
 CCGTTCTCAG

 TTCGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCAGGTCAGCATACTGCCG
 GTGAATACGT
 TCCCGGGTCTTGACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTTGCAACACCCGAAGTCGGTGAGGTAACCG
 TAAGGAGCCA
 GCCGCCGAAGGTGGGGCAGATGATTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTATCGGAAGGTGCGGCTGA

or a sequence having more than 97% similarity with
SEQ ID No. 1.

5

4. The bacterial strain as claimed in any one of
claims 1 to 3, characterized in that it is thermo-
resistant, saccharolytic and amylolytic and/or capable
of producing L(+) lactate.

10

5. The strain as claimed in any one of claims 1 to 4,
characterized by growth properties at temperatures of
the order of 40 to 50°C, at a pH of 5.4 to 9.15, with
an optimum for growth at 45°C, at a pH of approximately

15

7.

6. The bacterial strain as claimed in any one of

AMENDED SHEET

claims 1 to 5, characterized by a guanine plus cytosine content in its DNA of approximately 50 mol%.

7. A bacterial strain, characterized in that it is
5 *Exiguobacterium* of the *lactigenes* genus and in that it has a DNA sequence, at least part of which is capable of hybridizing with genomic or plasmid DNA of the strain deposited on December 5, 2002, under the No. I-2962, at the Collection Nationale de Cultures de
10 Microorganismes (C.N.C.M.), these strains being thermoresistant, saccharolytic and amylolytic and/or capable of producing L(+) Lactate, having growth properties at temperatures of the order of 40 to 50°C, at a pH of 5.4 to 9.15, with an optimum for growth at
15 45°C, at a pH of approximately 7, and a guanine plus cytosine content in its DNA of approximately 50 mol%.

8. The bacterial strain deposited with the C.N.C.M. on December 5, 2002, under the number I-2962.

20

9. A method for culturing the bacterial strain as claimed in any one of claims 1 to 8, characterized in that the process is carried out under facultative anaerobic conditions, at a pH of approximately 5.4 to
25 9.15, at 37°C, in particular of 6.5 to 7.5, in a basic medium containing a sugar that can be used as an energy source by this strain.

10. The use of the bacterial strain as claimed in one
30 of claims 1 to 8, in food fermentation processes.

11. A method for producing metabolites such as L(+) lactate, characterized in that it comprises:

- culturing a bacterial strain as claimed in any one
35 of claims 1 to 8, under conditions suitable for its development and for the production of the desired metabolite,

- recovering the metabolites produced, isolating the desired metabolite and purifying it.